

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 朱 凱

主論文 1 編

NADPH oxidase NOX1 is involved in activation of protein kinase C and premature senescence in early-stage diabetic kidney.

Free Radical Biology and Medicine 83: 21-30, 2015

## 審 査 結 果 の 要 旨

高血糖による活性酸素種（ROS）産生の亢進は糖尿病性腎症の発症・進展に寄与することが知られている。生体内 ROS の主要産生源であるNADPH オキシダーゼの触媒サブユニットには複数の分子種が存在し、NOX1は他の分子種に比し発現レベルは低いものの刺激を受けると誘導される特徴がある。特に慢性腎臓病の発症・進展に関わるアンギオテンシンII によりNOX1 が誘導されることから、NOX1 由来の ROS が糖尿病性腎症に関与しているのではないかと考え *Nox1* 遺伝子欠損マウス（KO）を用いて検討することとした。

実験には7週齢のKOと同腹野生型マウス（WT）を用い、尾静脈からストレプトゾトシンを2回投与（初回75mg/kg, 5日後150mg/kg）することにより1型糖尿病モデルを作製した。高血糖誘発3週後にWT群の腎臓、特に皮質におけるNOX1 mRNAの有意な発現増加が認められたが、他のNOX 分子種の発現に変化は認められなかった。インスリン投与群では血糖値の回復とともにNOX1 mRNAの発現増加は抑制された。高血糖誘発3週後の時点において、腎障害の指標となるアルブミン尿および血清尿素窒素の上昇、炎症に関わるMCP-1, PAI-1, ICAM-1, Osteopontin や線維化に関わるTGF- $\beta$ , CTGF, TIMP-1などの遺伝子発現、炎症性細胞の浸潤については両遺伝子型マウス間に差は認められなかった。しかし組織学的解析においてWT群の腎臓で認められる糸球体体積およびメサンギウム領域の拡大はKOで有意に抑制されていた。一方、酸化ストレスの指標である組織 8-OHdG とチオバルビツール酸反応物（TBARS）はWT群で顕著に増加していたが KOでは有意に抑制されていた。またWTの腎組織では protein kinase C (PKC)- $\alpha$  と  $-\beta$  の膜移行と酵素活性の増加が認められ、下流の p38 MAPK のリン酸化も亢進していたが、KO の腎組織ではいずれも有意に抑えられていた。p38-MAPK のリン酸化亢進に伴いサイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p27<sup>Kip1</sup> の発現増加が認められたが、KO群では有意に抑制されていた。さらに細胞老化の指標となる DNA 損傷マーカー  $\gamma$ -H2AX および  $\beta$ ガラクトシダーゼ陽性細胞の増加はKO 群で有意に抑制されていた。

以上が本論文の要旨であるが、NOX1由来の ROS が高血糖下において PKC を介してp38/p27<sup>Kip1</sup> シグナル伝達経路を活性化し、糸球体肥大とメサンギウム領域の拡大を伴う細胞老化を促進することが示された点で、医学上価値ある研究と認める。

平成27年4月16日

審査委員 教授 丸 中 良 典 ㊞

審査委員 教授 酒 井 敏 行 ㊞

審査委員 教授 佐 和 貞 治 ㊞